ارزیابی ویژگی های میکروبی و فیتوشیمیایی نوشیدنی کفیر فراسودمند غنی شده با عصاره ریشه جینسینگ قرمز

عرفان گل محمدیان[1]، مرجان نوری[1*]

۱. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران.

***نویسنده مسئول:** *Marjan.nouri@iau.ac.ir*

چکیده

گروهی از میکروارگانیسم‌های همزیست از جمله مخمرها و باکتری‌های اسید لاکتیک نوشیدنی کفیر را تشکیل می دهند. هدف از پژوهش حاضر غنی سازی نوشیدنی کفیر با بکارگیری عصاره جینسینگ جهت تولید نوشیدنی فراسودمند و بهبود خواص سلامت بخشی آن بود. در این پژوهش نمونه های نوشیدنی کفیر فراسودمند شامل عصاره جینسینگ در سطوح غلظت مختلف (۰، ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲ درصد) تولید شدند و آزمون های فیزیکوشیمیایی (pH، اسیدیته)، خصوصیات فیتوشیمیایی (آنتی اکسیدانی و میزان فنولیک کل)، شمارش میکروارگانیسم‌های زنده و سنجش آبگریزی سویه های میکروبی در مدت زمان ماندگاری ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز انجام شد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد کاهش pH و افزایش اسیدیته در تمام نمونه‌های نوشیدنی کفیر طی روزهای ماندگاری ۲۱ روزه به طور قابل توجهی مشاهده شد ($p\leq$۰/۰۵). غلظت بالاتر عصاره جینسینگ باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی (۷۰/۳۵ درصد) و محتوای فنول کل (۹۹/۶۰ درصد) شد. افزایش بقا و فعالیت باکتری‌های اسید لاکتیک (لاکتوباسیلوس، لاکتوکوکوس و بیفیدیوباکتریوم) با افزودن عصاره جینسینگ مشخص شد در حالی که روند معکوس در ماندگاری طولانی مدت مشاهده شد ($p\leq$۰/۰۵). بیشترین و کمترین درصد آبگریزی مربوط به گونه‌های لاکتوباسیلوس جدا شده از نمونه حاوی ۰/۸ درصد عصاره جینسینگ در روز اول (۷۰/۳درصد) و گونه‌های بیفیدیوباکتریوم جدا شده از شاهد در روز بیست و یکم (۳۳/۵ درصد) است. نتایج کلی پژوهش حاضر نشان داد که سطوح قابل قبول عصاره جینسینگ (۰/۸ درصد) را می توان به عنوان ترکیبات نگهدارنده و آنتی اکسیدان طبیعی در نوشیدنی کفیر با توجه به اثرات مفید متعدد بر سلامت مصرف کنندگان، توصیه کرد.

کلید واژه‌ها: کفیر، فراسودمند، پروبیوتیک، جینسینگ ، زنده مانی

مقدمه

محصولات لبنی مهمترین محصولاتی هستند که تولید آنها به شکل پروبیوتیک متداول است (Anvar and Nowruzi, 2022). تخمیر لاکتیکی و الکلی شیر با دانه‌های کفیر یا کشت آغازگر نوشیدنی تخمیری مانند کفیر را تولید می‌کند که به دلیل ویژگی‌های ضد دیابت، التهابی و میکروبی خود مزایای سلامتی فراوانی دارد و میکروبیوتای روده را تنظیم می‌کند (Korzhov et al., 2015). باکتری‌های اسید لاکتیک به عنوان پروبیوتیک در کفیر ترکیبات ضد میکروبی مانند اسیدهای آلی، پپتیدهای ضد میکروبی، *لانتی بیوتیک‌ها*[1] پراکسید هیدروژن و باکتریوسین‌ها را تولید می‌کنند (Moradi and Nouri, 2023). این گونه‌ها با کاهش رقابت ترکیبات مغذی، فعال شدن آنتاگونیستی و جلوگیری از چسبندگی عوامل بیماری زا به دیواره روده باعث کنترل عوامل بیماری زا می‌شوند (Pekcici et al., 2021). ویژگی آبگریزی بر چسبندگی پروبیوتیک‌ها به دیواره روده تاثیر می‌گذارد و با افزایش این عامل کارایی پروبیوتیک‌ها بهبود می‌یابد (Barzegar et al., 2021).

با توجه به خواص مفید کفیر مورد توجه بسیاری از کشورهای مختلف در سراسر جهان قرار گرفته است (Nouri and Khodaiyan, 2020; Pekcici et al., 2021). ویژگی همزیستی در بین مخمرها، اسید استیک و باکتری‌های اسید لاکتیک مشاهده می‌شود که بر درک طعم و کیفیت تولید کفیر تاثیر می‌گذارد (Anvar and Nowruzi, 2022). پروتئین (۲/۷ درصد)، اسید لاکتیک (۰/۶ درصد) و چربی (۱۰ درصد) مربوط به شیر در کفیر مشاهده می‌شود (Pekcici et al., 2021).

با توجه به تحقیقات قبلی وضعیت تغذیه‌ای نوشیدنی کفیر با استفاده از ترکیبات متمایز از جمله بذر کتان (۱ درصد وزنی/حجمی)، اسانس رزماری (۰/۱۵ درصد وزنی/حجمی) و شیر فندق (۲۵-۵۰-۷۵ درصد وزنی/حجمی)، هویج سیاه (۱۰ تا ۲۵ درصد) و عدس قهوه‌ای (۲ درصد (وزنی/حجمی) بهبود یافته است که تاثیر مثبتی بر فعالیت‌های هیپوگلیسمی، ضد التهابی، آنتی اکسیدانی و بقای میکروبی داشتند (Gunenc et al., 2017; Kim et al., 2017; Perna et al., 2019; Kabakcı et al., 2020).

جینسینگ از خانواده عشقه (Araliaceae) بوده که با نام علمی Panax ginseng شناخته شده است (Ardalanian and Fadaei, 2018). گیاه و ریشه جینسینگ قرمز و سفید دارویی سنتی و آسیایی است که قرن ها جهت بهبود سلامت، کاهش چربی، ضد دیابت، ضد خستگی، ضد استرس، ضد سرطان، بهبود حافظه و سیستم های ادراکی، مهار رشد سلول های تومور و درمان اختلالات جنسی مورد استفاده قرار گرفته است (Kim et al., 2022). ترکیبات شیمیایی مختلف جینسنگ سفید و جینسنگ قرمز می تواند منجر به برهمکنش ها و فعالیت های بیولوژیک متنوع شود و نتایج نشان داده است خصوصیات عملکردی و زیستی جنسینگ قرمز مطلوب تر است (He et al., 2018). ترکیبات شیمیایی ریزوم جینسینگ عبارت از گلیکوزیدهای استروئیدی به نام پاناکیلون[2] یک ساپونین به نام پاناکسوزید[3] مواد صابونی، اسانس روغنی فرار به نام پاناسین[4] ویتامین‌های گروه B، روی، استرول و گلیکوزیدی به نام جینسیونوزید[5]ست (Safari et al., 2020).

[1] *Lantibiotics*
[2] panakilone
[3] Panaksuzid
[4] Panasin
[5] Jinsyonozid

در بررسی تحقیقات پیشین نشان داده شد که از عصاره جینسینگ قرمز (۰ تا ۲ گرم بر لیتر) و پودر جینسینگ (۰ تا ۲ درصد وزنی/حجمی) به ترتیب در دوغ پروبیوتیک (حاوی Lactobacilus acidophilus La5, Bifidobacterium lactis BB12) و ماست پروبیوتیک (حاوی Lactobacillus plantarum NK181) بکار رفته است و بهترین تیمار برای زنده ماندن باکتری های پروبیوتیک در هر دو پژوهش غلظت ۱ گرم بر لیتر و ۱ درصد حاصل شده است (Ardalanian and Fadaei, 2018; Jang et al., 2018). همچنین از ترکیبات عدس قهوه‌ای (Gunenc et al., 2017)، پودر سیر لیوفیلیزه (Kim et al., 2017)، عصاره دارچین (Setiyoningrum et al., 2019)، آب انار (Dimitreli et al., 2019)، اسانس رزماری (Perna et al., 2019)، عسل (Perna et al., 2019) ، هویج سیاه (Kabakcı et al., 2020) و آب پنیر سویا (Turek and Wszołek, 2022) جهت بهبود خصوصیات کیفی نوشیدنی کفیر استفاده شده است. اما تاکنون هیچ مطالعه‌ای در مورد تأثیر بکارگیری عصاره جینسینگ قرمز بر نوشیدنی کفیر یافت نشده است. پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر عصاره جینسینگ در نوشیدنی‌های کفیر با غلظت‌های ۰، ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲ درصد بر برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی (pH و اسیدیته قابل تیتراسیون)، فیتوشیمیایی (ترکیبات فنولی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی)، بقای میکروبی و آبگریزی میکروارگانیسم‌های کفیر غنی شده انجام شد.

مواد و روش

شیر از شرکت لبنیات کاله (ایران، آمل) با ۲/۵ درصد چربی و ریشه جینسینگ قرمز کره جنوبی از بازار محلی آمل خریداری شد. دانه‌های کفیر به عنوان یک کشت آغازگر تهیه و از بطری‌های شیشه‌ای جهت حفظ نوشیدنی کفیر فراسودمند استفاده شد. سدیم هیدروکسید از شرکت فلوکا (ایالات متحده آمریکا) و سایر ترکیبات شیمیایی از جمله اسید سولفوریک، ایزوآمیل الکل، فنول فتالئین، سدیم سولفات، متانول، هگزان و محیط کشت ام آر اس (دی من، روگوسا و شارپ آگار) از شرکت مرک (آلمان) و استانداردهای متیل استر اسید چرب از سیگما (Supelco™ 37 جزء اسید چرب متیل استر مخلوط، Oakville، ON، کانادا) تهیه شد.

استخراج عصاره جینسینگ

جهت تهیه عصاره آبی ریشه جینسینگ قرمز، ابتدا ریشه توسط مخلوط کن (Kenwood) آسیاب و پودر شد، سپس به مدت ۵ ساعت در دمای ۴۰ درجه سلسیوس در آب (چهار برابر وزن پودر) خیسانده و صاف گردید. در مرحله بعد تبخیر (تا ۶۰ درصد ماده خشک) در خلاء در دمای ۴۵ درجه سلسیوس انجام شد (Ardalanian and Fadaei, 2018).

تهیه نمونه‌های نوشیدنی کفیر

شیر پاستوریزه و هموژنیزه شده تا دمای ۲۲ درجه سلسیوس خنک، با دانه‌های کفیر ۳ درصد (حجمی/حجمی) تلقیح و به مدت ۱۵ دقیقه مخلوط شد. سپس عصاره جینسینگ در سطوح مشخص برای تلقیح شیر اضافه و نمونه‌های به دست آمده در بطری‌های شیشه‌ای بسته‌بندی شدند. بطری‌ها در دمای ۴۲ درجه سلسیوس تا رسیدن به اسیدیته مورد نظر گرمخانه گذاری شدند، سپس به دمای ۴ درجه سلسیوس رسیدند. نمونه‌ها به صورت CK، $GK_{0.4}$، $GK_{0.8}$ و $GK_{1.2}$ به ترتیب برای ۰، ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲ درصد عصاره جینسینگ بیان شدند و آزمایش نوشیدنی‌ها در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ ماندگاری بررسی شد.

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

pH به صورت پتانسیومتری با استفاده از یک pH متر اندازه گیری شد (مجموع ۷ pH/ یون S220، Schwerzenbach، سوئیس) و اسیدیته به صورت گرم بر ۱۰۰ میلی لیتر در اسید لاکتیک بی آب بیان شد که بر اساس AOAC (2000) تعیین شد.

ارزیابی پتانسیل مهار رادیکال DPPH

ویژگی آنتی اکسیدانی با اندازه گیری پایداری مهار رادیکال آزاد DPPH (۲، ۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل) توصیف شد. در روش حاضر نمونه ۱۰۰ میکرولیتری با ۳/۹ میلی لیتر DPPH (۰/۰۲۲۷ گرم بر لیتر متانول) مخلوط و طی مدت ۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در تاریکی نگهداری شد. متانول به صورت بلانک اعمال شد و پس از سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه در g × ۱۴۰۰) جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر تشخیص داده شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH از طریق رابطه ۱ تعیین شد:

$$\text{درصد میزان مهار DPPH: رابطه ۱} = 100 \times {}^{(A0 - A1)}/_{A0}$$

مقادیر جذب برای نمونه‌های بلانک و فرآیند شده به ترتیب به صورت A_0 و A_1 بیان شد (Basiri and Nouri, 2021).

سنجش محتوای فنول کل

کل ترکیبات فنولی نوشیدنی کفیر با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو به عنوان استاندارد اندازه گیری شد. به طور خلاصه ۱ میلی لیتر از هر نمونه به ۶ میلی لیتر آب دیونیزه و ۰/۵ میلی لیتر از معرف N ۱ فنول فولین سیوکالتیو اضافه شد. سپس مخلوط به مدت ۵ دقیقه نگهداری و ۱ میلی لیتر سدیم کربنات به آن افزوده شد. پس از ۱ ساعت تاریکی جذب در طول موج ۷۲۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتری (ایالات متحده آمریکا، Thermo Scientific, Madison, WI) محاسبه و رابطه منحنی استاندارد فنولی کل رسم شد (Ardalanian and Fadaei, 2018).

تعیین شمارش میکروارگانیسم های زنده

پس از حداکثر رقت سریالی تعداد گونه لاکتوباسیلوس (محیط ام آر اس در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت)، لاکتوکوکوس (محیط ام آر ۱۷ در دمای ۲۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۲۰ ساعت)، بیفیدوباکتریوم (محیط ام آر اس- نالیدیکسیک اسید، نئومایسین سولفات، لیتیوم و پارومومایسین سولفات در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت) و واحدهای تشکیل کلنی در نمونه‌های کفیر تعیین شد. شمارش مخمر زنده به صورت شمارش واحدهای تشکیل کلنی در محیط آگار محاسبه شد که شامل ۰/۵ درصد مخمر، ۱ درصد گلوکز، ۱/۵ درصد آگار و ۰/۵ درصد پلی پپتون بود و قبل از شمارش پلیت‌های آگار در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری شدند (Turek and Wszołek, 2022).

سنجش آبگریزی سویه‌های میکروبی کفیر

ابتدا رقت نمونه های کفیر تعیین و با استفاده از روش پورپلیت گرمخانه گذاری شد. سپس گونه لاکتوباسیلوس (محیط ام آر اس در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت)، لاکتوکوکوس (محیط ام آر ۱۷ در دمای ۲۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۲۰ ساعت) و بیفیدیوباکتریوم (محیط ام آر اس- نالیدیکسیک اسید، نئومایسین سولفات، لیتیوم و پارومومایسین سولفات در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت) تا زمانی که OD_0 به ۰/۶ تا ۰/۷ برسد کشت داده شدند. مقدار ۳ میلی لیتر سوسپانسیون میکروبی به ۱ میلی

لیتر n-هگزادکان اضافه و گرمخانه گذاری در ۱۵ دقیقه انجام شد. لوله‌های حاوی نمونه‌ها به مدت ۳ دقیقه به شدت مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق گرمخانه گذاری شدند، در نهایت OD_0 اندازه گیری و برای تعیین آبگریزی از رابطه ۲ استفاده شد (Barzegar et al., 2021):

$$\text{درصد آبگریزی: رابطه ۲} = 100 \times {(OD0 - OD)}/{OD0}$$

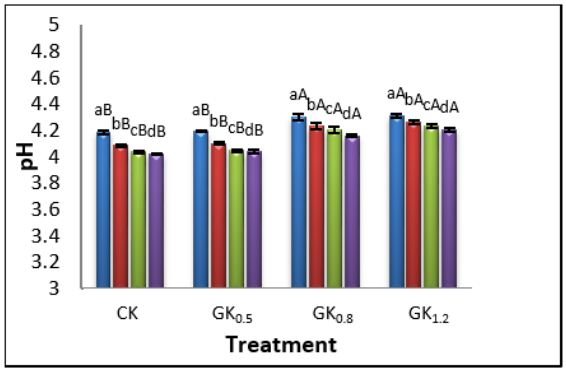
تجزیه تحلیل آماری

از آزمون نرمال بودن استفاده و پس از آن طرح فاکتوریل به صورت کامل و تصادفی در سه تکرار با میانگین و انحراف معیار انجام شد. بنابراین ۰، ۰/۴، ۰/۸ و ۱ درصد عصاره جینسینگ به ترتیب در روزهای ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ ماندگاری نشان داده شد. آزمون چندگانه دانکن در سطح ۰/۰۵ و تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار Minitab نسخه ۱۵ انجام شد.

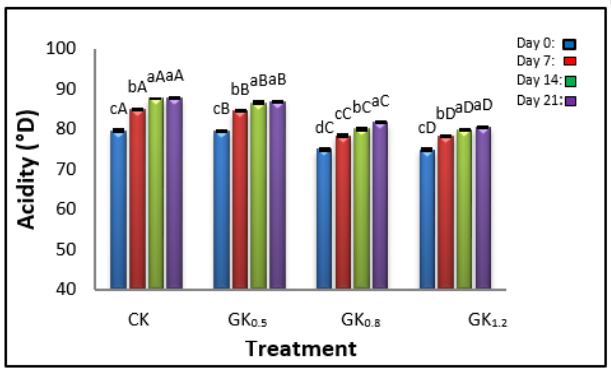
نتایج

خصوصیات فیزیکوشیمیایی

pH نوشیدنی‌های کفیر در طول بیست و یک روز ماندگاری کاهش یافت (شکل ۱ الف). بیشترین و کمترین pH به ترتیب ۴/۲۸ برای $GK_{1.2}$ (روز اول) و ۴/۰۲ برای CK (روز بیست و یکم) هنگام تولید حاصل شد. لازم به ذکر است که تفاوت معنی داری بین نمونه‌ها در روزهای چهاردهم و بیست و یکم مشاهده نشد ($p>0/05$). مقدار pH نوشیدنی‌های کفیر طی دوره گرمخانه گذاری کاهش و اسیدیته قابل تیتراسیون افزایش یافت ($p<0/05$)، این نتایج نشان داد که تغییرات pH و اسیدیته قابل تیتراسیون با یکدیگر همبستگی دارند. اسیدیته قابل تیتراسیون نوشیدنی‌های کفیر تولید شده از شیر غنی شده با عصاره جینسینگ در شکل ۱ ب ارائه شده است.



شکل ۱ (الف)



شکل ۱ (ب)

شکل ۱- تاثیر غلظت های مختلف عصاره جینسینگ (۰ درصد :CK، ۰/۴ درصد :$GK_{0.4}$، ۰/۸ درصد :$GK_{0.8}$ و ۱/۲ درصد :$GK_{1.2}$) بر فاکتورهای pH (شکل ا الف) و اسیدیته (شکل ا ب) نوشیدنی‌های کفیر در مدت زمان ماندگاری ۲۱ روز

ارزیابی بیولوژیکی

ویژگی‌های بیولوژیکی نمونه‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است و فعالیت آنتی اکسیدانی با افزودن عصاره مانند $GK_{0.8}$ و $GK_{1.2}$ افزایش یافته است که در تضاد با تخمیر طولانی بود. بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانی برای $GK_{1.2}$ با ۷۰/۳۵ درصد در روز اول و کمترین ۲۹/۰۹ درصد برای گروه شاهد در روز بیست و یکم مشاهده شد.

جدول۱ - تاثیر غلظت های مختلف عصاره جینسینگ (۰ درصد :CK، ۰/۴ درصد :$GK_{0.4}$، ۰/۸ درصد :$GK_{0.8}$ و ۱/۲ درصد :$GK_{1.2}$) بر آزمون‌های آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنولیک نوشیدنی‌های کفیر در مدت زمان ماندگاری ۲۱ روزه

تفاوت معنی داری در هر سطر با حروف انگلیسی بزرگ نشان داد شده است.

تفاوت معنی داری در هر ستون با حروف انگلیسی کوچک نشان داد شده است.

همچنین جدول ۱ تغییرات ترکیبات فنولی کل نمونه‌های تخمیر شده متمایز را در طی ۲۱ روز تخمیر نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$). $GK_{1.2}$ دارای بالاترین ۱۰۰/۲۴ (میلی گرم معادل اسید گالیک در هر گرم) ترکیبات فنولی کل و کمترین سطح آن ۴۸/۲۰ (میلی گرم معادل اسید گالیک در هر گرم) در CK ارائه شد. در یک زمان ثابت $GK_{0.8}$ و $GK_{1.2}$ ترکیبات فنولی کل بالاتری در مقایسه با CK و $GK_{0.4}$ نشان دادند، همچنین ترکیبات فنولی کل با افزایش تخمیر کاهش یافت.

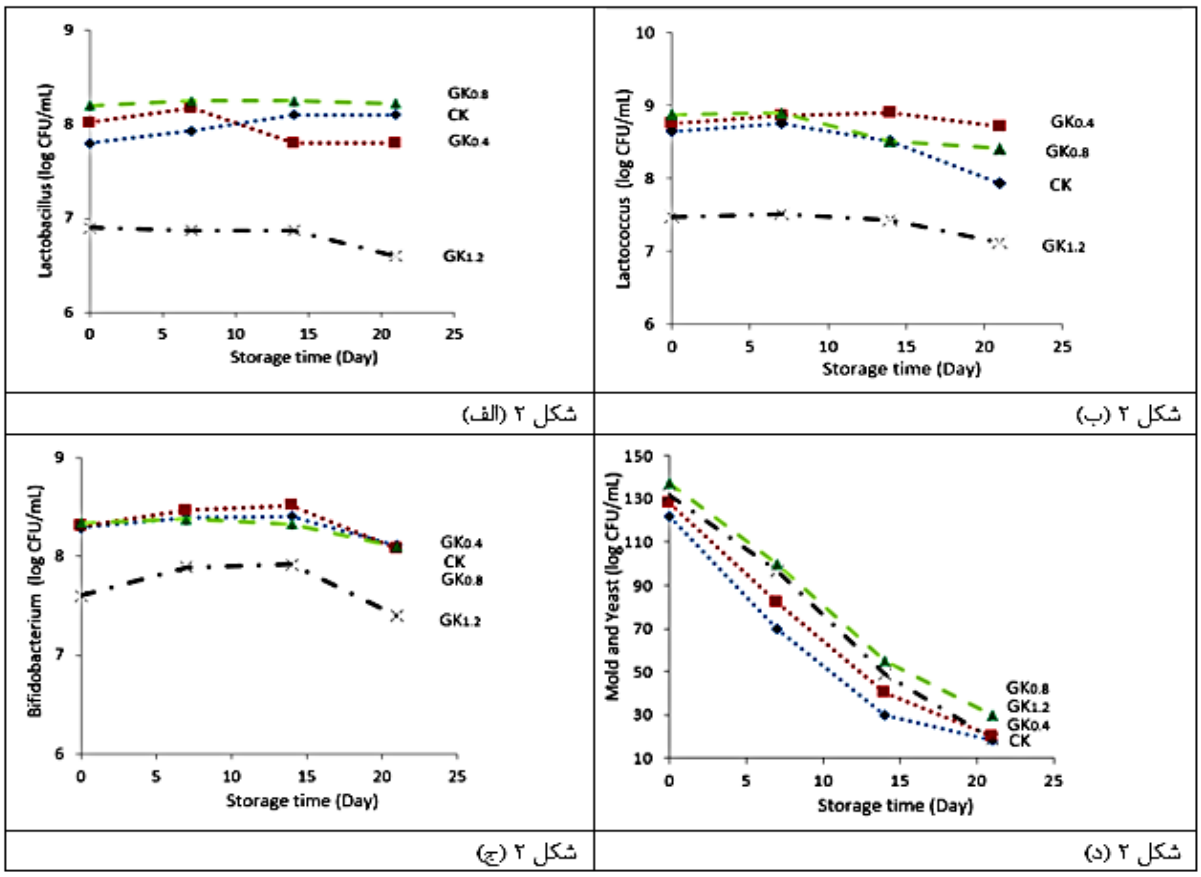
زنده مانی باکتری اسید لاکتیک، کپک و مخمر

نتایج شمارش باکتری اسید لاکتیک در شکل ۲ نشان داده شده است، بیشترین تعداد گونه‌های لاکتوباسیلوس، لاکتوکوکس و بیفیدیوباکتریوم ۸/۲۲، ۸/۹۰ و ۲۸/۱ (log CFU/mL) برای $GK_{0.8}$ در روز هفتم بود. اثر ماندگاری بر تعداد باکتری‌ها بررسی شد و می‌توان نتیجه گرفت که تعداد میکروارگانیسم‌ها تا روز چهاردهم تغییر معنی داری نداشت، اما پس از آن روند کاهشی در روز

فعالیت آنتی اکسیدانی (درصد)					
تیمارها	غلظت عصاره جینسینگ (درصد)	روز صفر	روز هفتم	روز چهاردهم	روز بیست و یکم
CK	۰	۴۵/۳۲±۰/۱۴^{dA}	۳۹/۹۱±۰/۵۴^{dB}	۳۳/۸۳±۰/۵۵^{dC}	۲۹/۰۹±۰/۳۱^{dD}
$GK_{0.4}$	۰/۴	۵۴/۶۱±۰/۳۸^{cA}	۴۳/۴۲±۰/۱۸^{cB}	۳۵/۲۱±۰/۱۳^{cC}	۳۰/۹۷±۰/۳۲^{cD}
$GK_{0.8}$	۰/۸	۶۸/۳۳±۰/۸۸^{bA}	۵۳/۰۲±۰/۲۹^{bB}	۴۴/۳۶±۰/۳۸^{bC}	۳۶/۴۳±۰/۰۸^{bD}
$GK_{1.2}$	۱/۲	۷۰/۳۵±۰/۵۶^{aA}	۵۷/۵۹±۰/۱۹^{aB}	۴۸/۳۲±۰/۵۴^{aC}	۴۱/۹۴±۰/۴۳^{aD}
محتوای فنولیک کل (درصد)					
CK	۰	۶۰/۵۲±۰/۹۷^{dA}	۵۵/۲۱±۰/۲۸^{dB}	۵۲/۱۴±۰/۵۳^{dC}	۴۸/۲۰±۰/۳۰^{dD}
$GK_{0.4}$	۰/۴	۷۲/۷۹±۱/۴۷^{cA}	۶۲/۳۰±۰/۵۵^{cB}	۵۶/۸۳±۰/۲۵^{cC}	۴۹/۸۷±۰/۴۷^{cD}
$GK_{0.8}$	۰/۸	۸۶/۷۱±۰/۷۱^{bA}	۷۸/۵۳±۰/۷۳^{bB}	۷۱/۵۳±۰/۴۵^{bC}	۶۰/۲۵±۰/۴۳^{bD}
$GK_{1.2}$	۱/۲	۹۹/۲۴±۶/۷۶^{aA}	۹۹/۱۱±۰/۴۳^{aB}	۸۶/۰۳±۰/۹۳^{aC}	۶۹/۸۸±۰/۸۴^{aD}

بیست و یکم مشاهده شد. نتایج شمارش کپک و مخمر در شکل ۲ (د) ارائه شده است، بیشترین میزان کپک و مخمر (حدود ۱۳۱

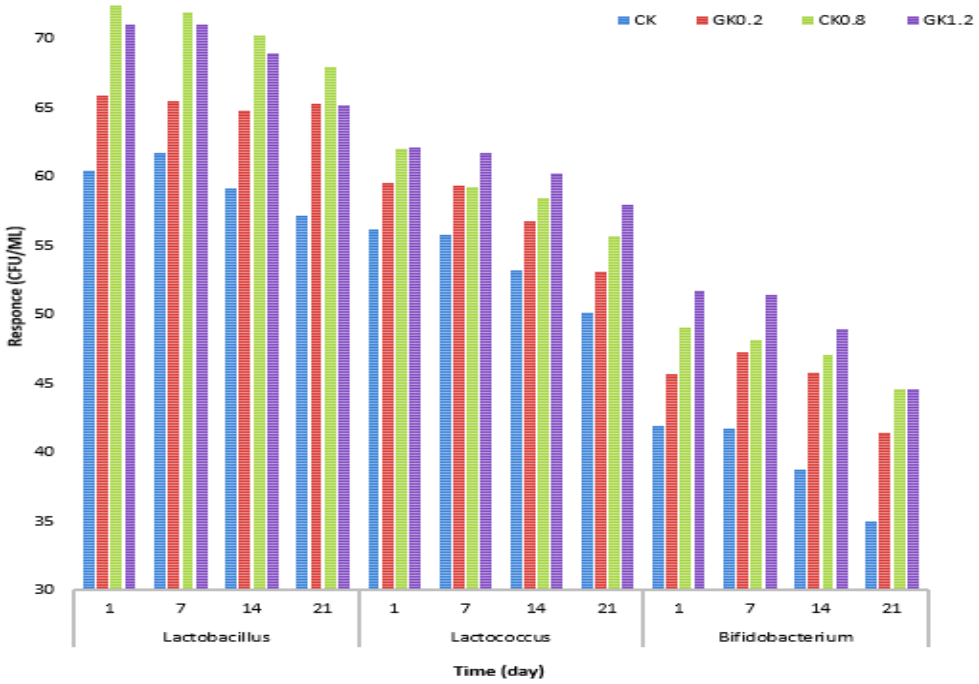
CFU/mL) برای $GK_{0.8}$ در روز اول و کمترین (حدود ۱۷ CFU/mL) برای CK در روز بیست و یکم گرمخانه گذاری بود. به طور کلی اثر زمان ماندگاری بر تعداد مخمر معنی دار بود به طوری که بیشترین تعداد آنها در روز اول در تمامی نمونه‌ها و کمترین تعداد در روز بیست و یکم تخمیر به دست آمد.



شکل ۲- تاثیر غلظت های مختلف عصاره جینسینگ (۰ درصد :CK، ۰/۴ درصد :$GK_{0.4}$، ۰/۸ درصد :$GK_{0.8}$ و ۱/۲ درصد :$GK_{1.2}$) بر زنده مانی میکروارگانیسم‌های موجود در نوشیدنی‌های کفیر در مدت زمان ماندگاری ۲۱ روزه

خصوصیت آبگریزی

همان طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، بیشترین و کمترین درصد آبگریزی مربوط به گونه‌های لاکتوباسیلوس جدا شده از $GK_{0.8}$ در روز اول (۷۰/۳ درصد) و گونه‌های بیفیدیوباکتریوم جدا شده از CK در روز بیست و یکم (۳۳/۵ درصد) است. آبگریزی گونه‌های لاکتوباسیلوس در همه نمونه‌ها نسبت به سایرین بیشتر است، درصد آبگریزی کفیر حاوی عصاره بیشتر از بدون آن است و تا روز چهاردهم اثر قابل توجهی روی آبگریزی مشاهده نمی‌شود، اما کاهش قابل توجهی از آبگریزی در روز بیست و یکم مشخص شده است.



شکل ۳- تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره جینسینگ (۰ درصد :CK، ۰/۴ درصد :$GK_{0.4}$، ۰/۸ درصد :$GK_{0.8}$ و ۱/۲ درصد :$GK_{1.2}$) بر خاصیت آبگریزی باکتری‌های لاکتیکی موجود در نوشیدنی‌های کفیر در مدت زمان ماندگاری ۲۱ روزه

بحث

pH از ۴/۴۷ به ۴/۵۸ با افزودن ۱ درصد (وزنی/حجمی) پودر سیر لیوفیلیزه (Kim et al., 2017)، از ۴/۳۱ به ۴/۳۶ با استفاده از ۱۰ تا ۲۵ درصد هویج سیاه (Kabakcı et al., 2020) از ۳/۷۹ تا ۳/۸۴ با ۴ درصد عصاره های دارچین (Setiyoningrum et al., 2019) در نوشیدنی کفیر افزایش یافت که در راستای تحقیق حاضر بود. با این حال محدوده pH از ۴/۳۱ به ۴/۲۴ در نوشیدنی کفیر با افزودن ۱۰ درصد توت سیاه، انار و توت فرنگی کاهش یافت (Kabakcı et al., 2020) که برخلاف پژوهش حاضر بود. تغییرات pH و اسیدیته عمدتا به تولید اسیدهای آلی خاص، اتانول، دی اکسید کربن و سایر ترکیبات فرار مرتبط است که در اثر جمعیت میکروبی در نوشیدنی‌های کفیر ایجاد می‌شود (Korzhov et al., 2015).

بیشترین اسیدیته برای CK (D° ۸۷/۹۶) و کمترین مقدار برای $GK_{1.2}$ (D° ۷۴/۰۲) به ترتیب در روز بیست و یکم و تولید ثبت شد، همچنین اسیدیته طی نگهداری افزایش معنی داری داشت و CK و $GK_{0.4}$ بالاترین سطح را نشان دادند ($p < ۰/۰۵$). اسیدیته با افزودن ۱ درصد (وزنی/ حجمی) پودر سیر لیوفیلیزه (Kim et al., 2017) و ۳ درصد (وزنی/ وزنی) عسل (Perna et al., 2019) کاهش و همچنین با استفاده از ۲ درصد (وزنی/ حجمی) عدس قهوه‌ای (Gunenc et al., 2017) و ۱۵ درصد (وزنی/ وزنی) آب انار (Dimitreli et al., 2019) در نوشیدنی کفیر افزایش یافت که مشابه تحقیقات ما بود.

شیر و مشتقات آن دارای آنتی اکسیدان‌هایی مانند لاکتوفرین، بتا لاکتوگلوبولین و آلبومین سرم گاو است (Kabakcı et al., 2020). این مطالعه نشان داد که کفیر غنی شده دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی است که با یافته‌های قبلی مطابقت دارد (Nouri and Khodaiyan., 2020; Setiyoningrum et al., 2019). پلی استایرن (عمدتا کفیران) حاوی باکتری‌های اسید لاکتیک، دارای گروه‌های عاملی متمایز (COOH-، OH- و CO-) بود که با رادیکال‌های آزاد واکنش داده و در نهایت از بین خواهد رفت که نشان دهنده نقش آنتی اکسیدانی آن است (Korzhov et al., 2015). نتایج پژوهش های قبلی نشان داد که ۳۰ درصد (وزنی/حجمی) عسل (Perna et al., 2019)، ۰/۱۵ درصد (وزنی/حجمی) اسانس رزماری (Perna et al., 2019)، ۸ درصد (حجمی/حجمی) دارچین (Setiyoningrum et al., 2019) و ۵ درصد (وزنی/حجمی) آب پنیر سویا (Turek and Wszołek, 2022) فعالیت آنتی اکسیدانی برتر کفیر را نشان می‌دهند که مطابق با مطالعه ما بودند.

پلی فنول‌ها با پروتئین‌های شیر تعامل دارند و ترکیب نامحلولی را تشکیل می‌دهند که پلی‌فنول کل آزاد را کاهش می‌دهد (Entezari and Nouri, 2022). از سوی دیگر احتمال اثر باکتری های لاکتیکی بر متابولیزه کردن عصاره هدف و تاثیر هم افزایی پپتیدهای حاوی پرولین بر خاصیت آنتی اکسیدانی پلی فنول ها نیز وجود دارد (Kabakcı et al., 2020; Setiyoningrum et al., 2019). محتوای فنولی کل کفیر با افزودن ۲۰ درصد (وزنی/وزنی) عصاره آبی توت خشک و ۲ درصد (وزنی/حجمی) عدس قهوه‌ای (Gunenc et al., 2017) بهبود یافت بدین صورت که میزان کل ترکیبات فنولیک از محدوده ۲۴ به ۶۵ (میلی گرم اسید گالیک/ ۱۰۰ گرم) در روز اول ماندگاری افزایش یافت که این روند مشابه تحقیق حاضر بود.

نتایج نشان داد تعداد باکتری اسید لاکتیک با وجود سوبسترای کمتر (لاکتوز) و همچنین اثر مهار کنندگی عصاره، کاهش یافت که همراستا با نتایج محققان پیشین بود (Sah et al., 2016). طی تلقیح کشت آغازگر میکروارگانیسم‌ها، لاکتوز را به باکتری‌های اسید لاکتیک، الکل و دی اکسید کربن به عنوان متابولیت‌های ثانویه تخمیر کردند که رشد آنها را به دلیل کاهش نسبت لاکتوز به اسید لاکتیک محدود می‌کند (Korzhov et al., 2015). اشکال گیاهی غنی شده (عصاره، اسانس و غیره) با پلی فنول‌ها و سایر ترکیبات ضد میکروبی مانند ساپونین‌ها به عنوان عوامل بازدارنده عمل کرده و رشد میکروبی را کاهش می‌دهند (Safari et al., 2020). اگزوپلی ساکارید کفیران بر رشد میکروبی و پتانسیل اکسایش-کاهش توسط باکتری‌های اسید لاکتیک تاثیر می‌گذارد همچنین سلول‌های میکروبی را با یک لایه نازک پوشانده و انتقال اکسیژن را کاهش می‌دهد (Korzhov et al., 2015). تعداد کپک و مخمر به طور کلی در محصولات لبنی تخمیر شده به ویژه کفیر بیشتر از فلور طبیعی باکتریایی است که به رشد سریع مربوط می‌شود (Pekcici et al., 2021). بر این اساس بیشترین میزان کپک و مخمر در نوشیدنی کفیر در ابتدای ماندگاری به دلیل وجود لاکتوز بیشتر مشاهده شد، اما با گذشت زمان از جمعیت آنها کاسته شد (Sah et al., 2016). مخمرها به عنوان یک عامل کلیدی در تهیه محصولات لبنی تخمیری در نظر گرفته می‌شوند که ترکیبات مغذی ضروری رشد مانند ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه، pH، اتانول و دی اکسید کربن را تامین می‌کنند. مخمرهای موجود در کفیر به وضوح محیطی مساعد برای متابولیت‌های تولیدکننده رشد باکتری‌ها فراهم می‌کنند که به طعم و احساس دهانی کمک می‌کنند (Korzhov et al., 2015). در پژوهش‌های پیشین ۲ درصد (وزنی/حجمی) عدس قهوه‌ای به دلیل داشتن فیبر و ترکیبات فنولیک (Gunenc et al., 2017)، بذر کتان ۱ درصد (وزنی/حجمی) با مقادیر بالای پکتین بعنوان سوبسترا واکنش های آنزیمی و پری بیوتیک باکتری‌های اسید لاکتیک (Kim et al., 2017) و ۵ (وزنی/حجمی) آب پنیر سویا با داشتن ترکیبات مغذی کافی برای حمایت از رشد باکتری‌ها (Tu et al., 2019) بکار رفته اند که

منجر به رشد و بقای بالاتر گونه‌های باکتری‌های اسید لاکتیک شده اند که نتایج آنها مشابه مطالعه حاضر می‌باشد. عصاره زنجبیل و دارچین به کفیر شیر بز اضافه شد که باکتری‌های اسید لاکتیک را از ۱×۱۰^{۱۰} برای کفیر بدون عصاره به ۹×۱۰^{۹} با ۸ درصد عصاره دارچین و $۳/۲ \times ۱۰^{۹}$ با ۱۲ درصد عصاره زنجبیل کاهش داد (Setiyoningrum et al., 2019).

عوامل متعددی بر ویژگی آبگریزی مانند خواص شیمیایی و ساختار باکتری‌ها مانند پروتئین، اسید آمینه، پلی ساکارید و ترکیبات لیپیدی در سلول‌ها، عوامل محیطی و رشد باکتری‌ها تاثیر می‌گذارند (Barzegar et al., 2021). آبگریزی سطح سلول توسط محققان قبلی ۵۰/۳۲ تا ۷۷/۸ درصد گزارش شده است (Somashekaraiah et al., 2019). عوامل مختلفی در چسبندگی پروبیوتیک‌های مختلف به سلول‌های روده نقش دارند که می‌توان به خواص آبگریزی و آب دوستی غشای سلولی میکروارگانیسم‌ها اشاره کرد. محیط‌های کشت مختلف بر اسیدهای چرب غشا سلولی تاثیر می‌گذارند و اثرات آنها آبگریزی و آب دوستی غشای سلولی را تغییر می‌دهد. بنابراین قابلیت چسبندگی به سطوح سلول‌های اپیتلیال یکی از مهم ترین شرایط انتخاب پروبیوتیک است (Wu and Shah, 2015). ترکیبات محیط کشت میکروارگانیسم‌ها اثر زیادی در تغییر دیواره سلولی و عملکرد آن دارد، اثر ترکیبات محیط کشت بر روی میکروارگانیسم‌ها در تحقیقات مختلف مشاهده شده است (Barzegar et al., 2021). اثرات اسید الائیدیک بر رشد و آبگریزی سطح لاکتوباسیلوس بررسی شد، نتایج نشان داد که الایدیک اسید خواص فیزیکوشیمیایی سطحی لاکتوباسیلوس را تغییر می‌دهد (Wu and Shah, 2015).

نتیجه گیری کلی

عصاره جینسینگ بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، آنتی اکسیدانی و میکروبیولوژیکی نوشیدنی های کفیر تاثیر معنی داری گذاشته است بدین صورت که غلظت بالاتر عصاره ظرفیت آنتی اکسیدانی و سطح ترکیبات فنولی کل بیشتری را نمایش داد. همچنین همبستگی منفی بین ترکیبات فنولی کل، پتانسیل آنتی اکسیدانی و زنده مانی باکتری‌های اسید لاکتیک در نوشیدنی‌های کفیر غنی شده با عصاره جینسینگ مشاهده شد. آبگریزی گونه های لاکتوباسیلوس، لاکتوکوکوس و بیفیدیوباکتریوم جدا شده از نمونه‌های کفیر غنی شده با عصاره نسبت به نمونه شاهد افزایش یافته است که نشان دهنده بهبود کارایی آنها در دستگاه گوارش انسان است. بنابراین سطوح قابل قبول عصاره را می توان به عنوان نگهدارنده و آنتی اکسیدان طبیعی به ویژه در محصولات لبنی پروبیوتیک استفاده کرد که اثرات مفید متعددی بر سلامت انسان دارد.

منابع

1. Anvar A.A. and Nowruzi B. 2022. A review of the use of cyanobacteria in increasing effects of prebiotic and probiotic on food. JFM. 9(3): 1-18
2. AOAC. 2000. Official methods of analysis. 17th edition. The association of official analytical chemists, Gaithersburg, MD, USA.
3. Ardalanian F. and Fadaei V. 2018. Production of probiotic doogh enriched with red ginseng extract. J Agric Sci Technol. 20(2): 277-287.
4. Barzegar H., Alizadeh Behbahani B. and Falah F. 2021. Safety, probiotic properties, antimicrobial activity, and technological performance of Lactobacillus strains isolated from Iranian raw milk cheeses. Food Sci Nutr. 9(8): 4094-4107.

5. Basiri M. and Nouri M. 2021. Enrichment of strawberry frozen yogurt by chia (Salvia hispanica L.) seeds. Food and Health. 4(4): 28-34.
6. Dimitreli G., Petridis D., Kapageridis N. and Mixiou M. 2019. Effect of pomegranate juice and fir honey addition on the rheological and sensory properties of kefir-type products differing in their fat content. LWT. 111: 799-808 .
7. Entezari E. and Nouri M. 2022. Improving stability of bioactive components and folate and survival of Bifidobacterium Bifidum and Bifidobacterium Lactis in probiotic ice creams containing Japanese loquat pulps. Nutr Food Sci. 9(1): 49-56.
8. Gunenc A., Yeung M.H., Lavergne C., Bertinato J. and Hosseinian F. 2017. Enhancements of antioxidant activity and mineral solubility of germinated wrinkled lentils during fermentation in kefir. J Funct Foods. 32: 72-79.
9. He M., Huang X., Liu S., Guo C., Xie Y., Meijer A.H. and Wang M. 2018. The difference between white and red ginseng: Variations in ginsenosides and immunomodulation. Planta Med. 84(12): 845-854.
10. Jang H.J., Jung J., Yu H.S., Lee N.K. and Paik H.D. 2018. Evaluation of the quality of yogurt using ginseng extract powder and probiotic Lactobacillus plantarum NK181. Korean J Food Sci Anim Resour. 38(6): 1160-1167.
11. Kabakcı S.A., Türkyılmaz M. and Özkan M. 2020. Changes in the quality of kefir fortified with anthocyanin-rich juices during storage. Food chem. 326: 126977.
12. Kim D.H., Jeong D., Oh Y.T., Song K.Y., Kim H.S., Chon J.W., Kim H. and Seo K.H. (2017). Stimulating the growth of kefir-isolated lactic acid bacteria using addition of crude flaxseed (Linum usitatissimum L.) extract. J Dairy Sci Biotechnol. 35(2): 93-97.
13. Kim H., Lee Y.S., Yu H.Y., Kwon M. and Kim K.K. In G. Hong S.K and Kim S.K. 2022. Anti-inflammatory effects of Limosilactobacillus fermentum KGC1601 isolated from panax ginseng and its probiotic characteristics. Foods. 11: 1707.
14. Korzhov R., Ponomarev A., Melnikova E. and Bogdanova E. 2015. Preclinical studies of kefir product with reduced allergenicity of β-lactoglobulin. Foods Raw Mater. 3(2): 115-121.
15. Moradi S. and Nouri M. 2023. Production of functional kefir supplemented by *Portulaca oleracea L.* seed oil. J. Food Meas. Charact. 17(5): 3264 - 3271.
16. Nouri M. and Khodaiyan F. 2020. Magnetic biocatalysts of pectinase: Synthesis by macromolecular cross-linker for application in apple juice clarification. Food Technol Biotechnol. 58(4): 391-401.
17. Pekcici M.E., Guler E. and Topkafa M. 2021. Biogenic amine contents in Turkish dairy products: determination and comparison. J Food Meas Charact. 15(5): 4119-4127.
18. Perna A., Simonetti A. and Gambacorta E. 2019. Phenolic content and antioxidant activity of donkey milk kefir fortified with sull a honey and rosemary essential oil during refrigerated storage. Int J Dairy Technol. 72(1): 74-81.
19. Safari M., Gholamzadeh A., Asadi A. and Mahjoor M. 2020. The therapeutic and anti-inflammatory effects of ginseng in multiple sclerosis patients. RJMS. 27 (2) :61-69.
20. Sah B.N.P., Vasiljevic T., McKechnie S. and Donkor O. 2016. Physicochemical, textural and rheological properties of probiotic yogurt fortified with fibre-rich pineapple peel powder during refrigerated storage. LWT. 65: 978-986.

21. Setiyoningrum F., Priadi G. and Afiati F. 2019. Supplementation of ginger and cinnamon extract into goat milk kefir. AIP Conf Proc. 2175: 020069.
22. Somashekaraiah R., Shruthi B., Deepthi B. and Sreenivasa M. 2019. Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from neera: a naturally fermenting coconut palm nectar. Front Microbiol. 10: 1382.
23. Tu C., Azi F., Huang J., Xu X., Xing G. and Dong M. 2019. Quality and metagenomic evaluation of a novel functional beverage produced from soy whey using water kefir grains. LWT. 113: 108258.
24. Turek K. and Wszołek M. 2022. Effect of walnut oil on the fatty acid content of probiotic kefir produced either with kefir grains or kefir starter cultures. Int Dairy J. 127: 105290.
25. Wu Q. and Shah N.P. 2015. Gas release-based prescreening combined with reversed-phase HPLC quantitation for efficient selection of high-γ-aminobutyric acid (GABA)-producing lactic acid bacteria. J Dairy Sci. 98(2): 790-797.

Microbial and phytochemical attributes of kefir as a functional beverage enriched with red ginseng root extract

Erfan Golmohammadian[1], Marjan Nouri[1*]

1.Department of Food Science and Technology, Roudehen Branch, Islamic Azad University, Roudehen, Iran

Corresponding author[*]: *Marjan.nouri@iau.ac.ir*

Abstract

A number of symbiotic microorganisms including yeasts and lactic acid bacteria constitutes the kefir as a functional beverage. The aim of the current research was to enrich kefir drink by using ginseng extract to produce a functional beverage and improve its health beneficial for human. In the present study, treatments of kefir beverage containing ginseng extract were manufactured at distinct concentrations (0, 0.4, 0.8 and 1.2 %). Physicochemical tests (pH level, acidity rate), phytochemical attributes **(**antioxidant and total phenolic contents), living microorganism and hydrophobicity index of microbial strains were carried out during shelf life (0, 7, 14 and 21 days). The results of present research demonstrated that pH reduction and acidity enhancement were significantly observed in all beverage treatments during 21 days of shelf life ($p \leq 0.05$). The higher concentration of the extract elevated the antioxidant capacity (70.35 %) and total phenol content (99.60 %). An increase in the survival and activity of lactic acid bacteria (Lactobacillus, Lactococcus and Bifidiobacterium) was determined by adding ginseng extract, while the opposite trend was detected in long-term shelf life ($p \leq 0.05$). The highest and lowest percentages of hydrophobicity are related to Lactobacillus species isolated from the treatment consisting of 0.8 % extract on the 1st day (70.3 %) and Bifidiobacterium species isolated from the control on the 21st day (33.5 %). The overall results outlined that the acceptable levels of ginseng extract (0.08 %) can be recommended as a natural preservative and antioxidant in kefir beverage due to its several beneficial effects on human health.

Key words: kefir, functional, probiotic, ginseng, survival